

Zusammenhänge zwischen Östrogen-Biosynthese
und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
in menschlicher Placenta

Dorothea Bardens

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie

(Abteilungsleiter: Prof. Dr. G.W. Oertel)

der Universitäts-Frauenklinik, Mainz

(Direktor: Prof. Dr. V. Friedberg)

Zusammenhänge zwischen Östrogen-Biosynthese
und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
in menschlicher Placenta

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Dorothea Bardens

aus Kaiserslautern

Mainz 1972

Fachbereichsdekan: Professor Dr. H. Langendorf
Referent: Professor Dr. Georg W. Oertel
Korreferent: Professor Dr. Volker Friedberg
Tag der mündlichen Prüfung: 26. 9. 1973



Gesamtherstellung



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN

AM KAPELLECHEN 1 · RUF 0 61 32 / 57 11

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung.....	1
I. Die Placenta und ihre Funktion.....	1
1) Aufbau der Placenta.....	1
2) Aufgabe der Placenta.....	2
3) Hormone der Placenta.....	2
a) Choriongonadotropin.....	2
b) Östrogene.....	3
c) Progesteron.....	4
II. Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und ihr Coenzym NADP ⁺	5
III. DHEA - Präkursor der Östrogene.....	7
B. Problematik.....	12
C. Material und Methodik.....	13
I. Verwendete Abkürzungen.....	13
II. Trivialnamen und chemische Bezeichnungen der in dieser Arbeit vorkommenden Steroide.....	14
III. Herkunft der Materialien.....	14
IV. Herstellung der Enzympräparation.....	15
V. Inkubationsversuche und Bestimmung der G-6-PDH-Aktivität.....	15
VI. Aufarbeitung der Inkubate.....	16

1) Extraktion freier Steroide.....	16
2) Extraktion der Steroidkonjugate.....	16
3) Trennung der Steroidkonjugate durch Säulenchromatographie an Polyamid.....	17
4) Isolierung von Steroiden.....	18
a) Isolierung der Östrogene.....	18
b) Isolierung der neutralen Steroide.....	18
D. Ergebnisse.....	20
E. Diskussion.....	29
F. Zusammenfassung.....	35
G. Literaturverzeichnis.....	36

A. Einleitung

I. Die Placenta und ihre Funktion

1) Aufbau der Placenta

Die Placenta besteht aus einem kindlichen und einem mütterlichen Anteil. Die reife Placenta hat Scheibenform und ist etwa 20 cm breit, 3 cm dick und wiegt etwa 500 g. Der fetale Anteil besteht aus einer dicken Chorionplatte, von der aus 20 Zottenstämme abgehen, die sich baumartig verzweigen, so daß eine starke Oberflächenvergrößerung zustandekommt. Die Zottenstämme sind mit dem mütterlichen Anteil, der Basalplatte verwachsen. Das dazwischenliegende Raumgitter ist von mütterlichem Blut erfüllt; in den Zottenstämmen lösen sich die fetalen Blutgefäße zu einem feinen Kapillarnetz auf (56).

Die Durchströmung der Placenta mit mütterlichem Blut erfolgt wie in jedem anderen kapillären Spaltsystem; das Blut aus den intervillösen Spalten fließt zum Teil durch die Venen der Basalplatte ab. Der größte Teil wird durch die sinusartigen Hohlräume am Rande der Placenta in das mütterliche Venensystem abtransportiert.

Fetales und mütterliches Blut sind nur durch dünne Wände voneinander getrennt, die im wesentlichen aus dem Chorionepithel, dem Zottenstroma und dem feinen Epithel der fetalen Zottenkapillaren bestehen.

Die Dicke dieser Membran beträgt je nach Alter der Placenta zwischen $2 - 30 \mu$. Hier erfolgt der Sauerstoffaustausch zwischen dem kindlichen und dem mütterlichen Blut, dennoch kommt es nicht zur Vermischung beider Blutarten (26, 56).

2.) Aufgabe der Placenta

Die Placenta ist für den Keimling vor allem als Atmungs-, Nähr- und Exkretionsorgan von Bedeutung. Seine Ernährung erfolgt durch Diffusion in Richtung des Konzentrationsgefälles. Das Syncytium schützt den Feten vor individualfremden, groß- und kleinemolekularen Eiweißkörpern. Nur die γ -Globuline der Mutter erreichen den Keimling.

Als innerkretorische Drüse hat die Placenta die Aufgabe, die Schwangerschaftsveränderung im mütterlichen Organismus zu unterhalten und zu steuern. Schon im zweiten Schwangerschaftsmonat vermag die Placenta die innerkretorische Funktion des Ovariums der Mutter während der Schwangerschaft zu ersetzen. (59) .

Da nervöse Verbindungen zwischen Mutter und Frucht fehlen und die Placenta keinerlei Nerven führt, muß die Einflußnahme auf hormonellem Weg erfolgen. Die Placenta produziert folgende Hormone, deren Bildung nachgewiesen ist (7, 16, 59) :

3.) Hormone der Placenta

a) Choriogonadotropin (HCG = human chorionic gonadotropine)

Dieses Hormon wird in den Langhans' Zellen der Placenta gebildet und ist ein Proteohormon, das in seiner Wirkung dem hypophysären LH (Luteinisierendes Hormon) sehr ähnlich ist, es weist starke luteotrope Wirkung auf (41). Es wird während der Schwangerschaft als erstes Hormon in größeren Mengen in der Placenta gebildet und ist in Blut und Urin nachweisbar (51).

Es dient als Grundlage der Schwangerschaftsreaktion im Harn. Seine Konzentration im mütterlichen Organismus erreicht innerhalb des dritten Schwangerschaftsmonats ein Maximum, um danach wieder abzufallen (14, 51).

Unter seinem Einfluß entwickelt sich das Corpus Luteum weiter zum Corpus Luteum Graviditatis mit erhöhter Gestagenbildung (7, 42).

b) Östrogene : Östron, 17 β - Östradiol und Östriol

Die Östrogene sind ihrem Aufbau nach C_{18} -Steroide. Östradiol, mit der stärksten östrogenen Wirkung, ruft beim weiblichen Geschlecht die charakteristische weibliche Entwicklung und die psychische Verhaltensweise hervor (17). Während der Schwangerschaft besteht die Wirkung der Östrogene hauptsächlich im Anregen des Wachstums der Uterusmuskulatur, sowie in der Förderung der Entwicklung der Milchgänge der Mamma. Während der Gravidität nimmt die Konzentration der Östrogene in der Placenta zu (10). In hohen Dosen vermögen die Östrogene die Sekretion der Gonadotropine des Hypophysenvorderlappens zu hemmen, infolgedessen atrophieren die Ovarien; Follikelbildung und Ovulation werden unterdrückt, es kommt nicht zur Menstruation (17).

Als Bildungsstätte der Östrogene, die als Endprodukt der Steroidbiosynthese angesehen werden dürfen, gilt als Syncytium (51).

Als Vorstufe für die Biosynthese, ist vor allem Dehydroepiandrosteron von Bedeutung. Es wird von mütterlicher und fetaler Nebennierenrinde gebildet (52). Durch Hydroxylierung, Dehydrierung und Aromatisierung des Ringes entstehen Östron und 17 β -Östradiol (8, 51). Als weitere Möglichkeit der Östrogenbiosynthese ist der

Weg von Pregnenolon über Progesteron $\rightarrow$ 17 α -Hydroxyprogesteron und Androstendion zu erwägen (8).

Die im Feten zirkulierenden Östrogene sind weitgehend Sulfokonjugate und schützen ihn dadurch vor den biologischen Östrogeneffekten.

In der Placenta hingegen befinden sich die Östrogene in ihrer freien, biologisch wirksamen Form (51).

c) Progesteron

Progesteron gehört seinem Aufbau nach zur Gruppe der C₂₁-Steroide.

Bei der Frau wird Progesteron in wechselnden Mengen während des Zyklus und in steigenden Konzentrationen während der Gravidität gebildet. Die beachtliche Leistung der Placenta hinsichtlich der Steroidbiosynthese erhellt daraus, daß sie gegen Ende der Schwangerschaft in jeweils 3,5 Minuten die gesamte zirkulierende Progesteronmenge im Organismus ersetzt (42).

Progesteron bewirkt die sekretorische Transformation des Endometriums als Vorbereitung zur Aufnahme eines befruchteten Eies und verhindert weitere Eireifung, Ovulation und menstruelle Blutung. Es stellt die Uterusmuskulatur ruhig und vermindert die Ansprechbarkeit auf Ocytocin (41). Unter seinem Einfluß kommt es zum Wachstum der Brust und ihrer Vorbereitung zur Laktation (14). Progesteron ist daher hauptsächlich zur Aufrechterhaltung der Schwangerschaft notwendig. Progesteronmangel führt zum Abort (42).

Die Vorstufen in der Biosynthese des Progesterons sind Cholesterin und Pregnenolon (17, 46, 51). Die Umwandlung des

Pregnenolons zu Progesteron wird durch 3 β -Hydroxysteroiddehydrogenase und 4,5-Isomerase katalysiert. Dieses Enzymsystem findet man reichlich in der Placenta (53). Das Hormon wird nach seiner Synthese ins mütterliche Blut sezerniert und gelangt dabei nicht nur in den mütterlichen, sondern auch in den fetalen Organismus, in den es durch die Umbilikalvenen einströmt und wo es metabolisiert wird. Als Orte des fetalen Metabolismus kommen hauptsächlich Nebennierenrinde und Leber in Frage (48, 49, 61). Die Metaboliten erreichen schließlich über die Umbilikalarterie wieder die Placenta.

Als wesentlichstes Abbauprodukt des Progesterons wird Pregnanolol in schwankenden physiologischen Mengen während des normalen Zyklus und in großen Konzentrationen bei Schwangeren im Urin ausgeschieden.

Außer den genannten Verbindungen bildet die Placenta noch weitere Hormone, deren Nachweis diagnostisch an Bedeutung gewinnt. Das Proteohormon HPL (human Placental Lactogen) z.B., das ähnliche biologische Eigenschaften wie HCG zeigt, hat in letzter Zeit besondere klinische Aufmerksamkeit durch eine signifikante Beziehung zwischen seiner Konzentration im Blutplasma der Schwangeren und einer Schädigung der foeto-placentaren Einheit gefunden (16).

II. Die Glucose - 6 - phosphat - Dehydrogenase

Die G-6-PDH (Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase) spielt eine wichtige Rolle bei der Oxidation der Glucose. Durch die G-6-PDH wird Wasserstoff von Glucose-6-phosphat auf NADP^+

übertragen und gleichzeitig 6-Phosphogluconolacton gebildet :



Das 6-Phosphogluconolacton unterliegt einer Hydrolyse zur 6-Phosphogluconsäure. Die Reaktion wird durch Lactonase katalysiert. Vermittels der 6-Phosphogluconsäure-Dehydrogenase wird diese Verbindung dehydriert und decarboxyliert. Über ein Zwischenprodukt entsteht Pentosephosphat, welches seinerseits durch Transketolasen und Transaldolasen in Triosen, Tetrosen und Heptosen umgewandelt werden kann. Diese Reaktionen sind als " Pentosephosphat-Zyklus" oder " Dickens-Horecker-Schema" bekannt (siehe Abb. 4).

$NADP^+$ (Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat) stellt im Verlauf dieser Reaktionen das wichtigste Wasserstoff-übertragende Coenzym dar. Im Verlauf der reversiblen Aufnahme von Wasserstoff wird dabei der Pyridinring reduziert (5). Das entstehende NADPH wird im Organismus als Protonendonator benötigt (50) und ist als Coenzym an folgenden Reaktionen beteiligt :

Biosynthese von Fettsäuren

Biosynthese von Cholesterin und Abbau zu Pregnenolon

Reduktion der Folsäure zu Tetrahydrofolsäure für den

Abbau von Purinen und Pyrimidinen

Reduktion disulfidischer Bindungen z.B.

Spaltung der Disulfidbrücken im Insulin-

molekül (50).

Die G-6-PDH, die in vielen tierischen und menschlichen Geweben vorkommt, läßt sich an der NADP-Bildung quantitativ bestimmen (19).

III. DHEA - Präkursor der Östrogene

DHEA (Dehydroepiandrosteron) stellt als C_{19} -Steroid den mengenmäßig wichtigsten Vertreter der Steroide im Blut dar. Bei einer täglichen Produktionsrate von 10 - 14 mg (20) erreicht die Konzentration im Plasma gesunder Männer und Frauen Werte bis 250 bzw. $150 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (2). Während die eigentlichen Steroidhormone der Nebennierenrinde und der Gonaden ihre spezifische Wirkung als freie Verbindungen entfalten, liegt DHEA im menschlichen Blut fast ausschließlich als Sulfokongulat vor. Der Anteil an freiem DHEA beträgt nur 1% der Gesamtmenge.

Zu den bedeutendsten Metaboliten, die in Harn und Schweiß (40) ausgeschieden werden, gehören neben anderen Ring-A-gesättigten C_{19} -Steroiden die 17-Ketosteroide Androsteron und Ätiocholanolon. Der Metabolismus des sulfokongulierten DHEA's und auch des DHEA-Glucuronosids erfolgt vornehmlich auf direktem Weg, das heißt ohne vorherige Spaltung des Kongulates (35). Im Verlauf der zugrunde liegenden Reaktion wird zunächst eine Dehydrierung in Ring A zur Oxidationsstufe des Androstendions angenommen, dessen Sulfokongulat die Struktur eines 3,5-Dienolesters besitzt. Androstendion und Testosteron aber, die wie ihre Vorstufen DHEA und Androstendiol einem durch 17 β - Hydroxysteroiddehydrogenase gesteuerten Redoxgleichgewicht unterliegen, sind ebenso als Präkursoren der Östrogenbiosynthese bekannt (58). Während also auf der einen Seite das beschriebene Sulfokongulat des Androstendions einer fortschreitenden Reduktion zu gesättigten C_{19} -Steroiden unterliegt, führen Hydroxylierung der Δ^5 -3 β -Hydroxy- und Δ^4 -3-Ketosteroide an C-19, Dehydrierung und Aromatisierung auf der

anderen, schließlich zu sulfokonjugierten Östrogenen (41) .
Außer der experimentell gesicherten Bildung von Androgenen und Östrogenen aus sulfokonjugiertem DHEA (5, 30, 34, 45) können aber auch freie Androgene und Östrogene auftreten, die auf die im Gewebe verbreitete Sulfataseaktivität zurückzuführen sind (55) . Dennoch scheint dem direkten Metabolismus des DHEA-sulfatids, als dem vorherrschenden Sulfokonjugat, die weitaus größere Bedeutung zuzukommen.

Zahlreiche Experimente konnten zeigen, daß nach Gabe von DHEA-sulfat bei gesunden Männern und Frauen ein Anstieg von DHEA und seinen Metaboliten in Blut und Harn zu beobachten war (38) .

Sulfokonjugate bestimmter Steroide vermögen einen Einfluß auf gewisse Enzymsysteme auszuüben. Als Beispiel sei hier die Hemmung der Pyridoxalphosphat-abhängigen Enzyme wie Phosphorylase durch sulfokonjugierte Östrogene genannt (21, 24, 25, 32) . Ähnliche Versuche mit DHEA ließen zunächst nur eine Hemmung der G-6-PDH durch freies Steroid erkennen. Doch wurde auch in letzter Zeit die Hemmung der G-6-PDH aus menschlichen Geweben durch physiologische Mengen DHEA-sulfatid beobachtet.

Zusammenfassend darf also gesagt werden, daß dem DHEA eine zweifache Aufgabe zuteil wird :

DHEA stellt eine potentielle Vorstufe für die im Organismus benötigten Androgene und Östrogene dar. Es spielt eine nicht unbedeutende Rolle bei der Östrogenbiosynthese und hat andererseits gleichzeitig eine regulierende Wirkung auf die G-6-PDH (33) .

Abbildung 1

Wirkung der Placentahormone (nach Zander) (43)

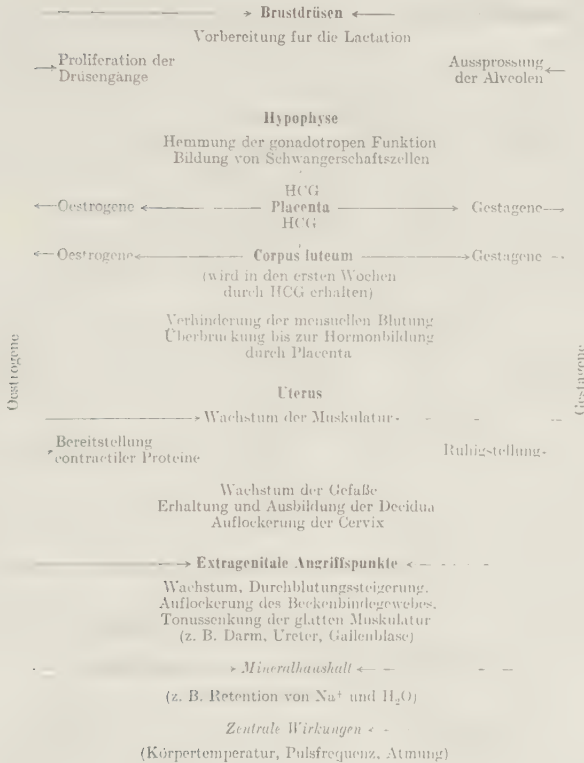


Abbildung 2

Biosynthese der Gestagene, Androgene und Östrogene (60)

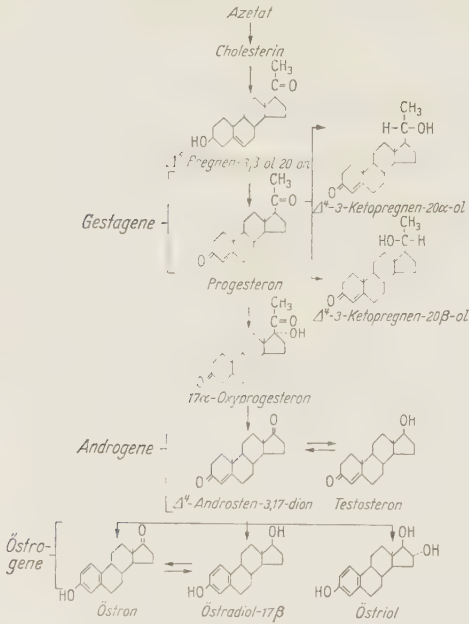
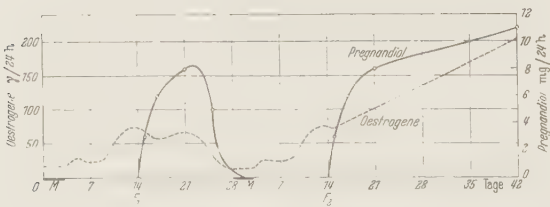


Abbildung 3

Ausscheidung von Östrogenen und Pregnanliol während des mensuellen Zyklus und bei eingetretener Gravidität (43).



B. Problematik

Der Einfluß der G-6-PDH in menschlicher Placenta auf den Stoffwechsel des DHEA's schien insofern von Interesse, als das Steroid einmal das Substrat für verschiedene Reaktionen darstellt, die zu meist NADPH-abhängig sind, zum anderen aber die Aktivität von genanntem Enzym deutlich hemmt. Bei ersten Untersuchungen über Wechselwirkungen zwischen Enzym und Substrat ergab sich folgender Zusammenhang (4) :

G-6-PDH beeinflusst tatsächlich den Stoffwechsel des DHEA's; gleichzeitig wirkt DHEA als Inhibitor der G-6-PDH-Aktivität. Innerhalb der erwähnten Versuche hatte man sich allerdings bei der Analyse der verschiedenen Metaboliten mit der Erfassung neutraler C_{19} -Steroide begnügt. Als wichtigste Stoffwechselprodukte, die aus $7\alpha - ^3H$ -DHEA in Gegenwart von $NADP^+$ und NADPH, sowie den entsprechenden Enzymsystemen gebildet wurden ermittelte man dort Androstendiol und Androstendion.

Nachdem der Placenta im Steroidstoffwechsel eine sehr wichtige Rolle zukommt, die vor allem in der Östrogenbiosynthese aus 3β -Hydroxy- Δ^5 - C_{19} -Steroiden zu sehen ist (23), sollten die Bildung von Östrogenen aus $7\alpha - ^3H$ -DHEA, seinem Sulfat oder seinem synthetischen Sulfatid unter Einwirkung der placentaren G-6-PDH untersucht und bestehende Zusammenhänge geklärt werden.

C. Material und Methodik

I. Verwendete Abkürzungen

DHEA	Dehydroepiandrosteron
DHEA-S	Dehydroepiandrosteronsulfat
DHEA-STD	Dehydroepiandrosteronsulfatid
E	Extinktion
E ₁	Östron
E ₂	Östradiol
E ₃	Östriol
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
G-6-PDH	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
HPL	Human Placental Lactogen
M	molar (Mol/ Liter)
NADP ⁺	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NADPH	reduzierte Form des NADP ⁺
nm	Nanometer (= 10 ⁻⁹ Meter)

II. Trivialnamen und chemische Bezeichnungen der in dieser Arbeit vorkommenden Steroide

Dehydroepiandrosteron (3 β -Hydroxy-5-androsten-17-on)

Androstendiol (5-Androsten-3 β ,17 β -diol)

Androstendion (4-Androsten-3,17-dion)

Androstentriol (5-Androsten-3 β ,16 α , 17 β -triol)

Testosteron (17 β -Hydroxy-4-androsten-3-on)

Androsteron (3 α -Hydroxy-5 α -androstan-17-on)

Ätiocholanolon (3 α -Hydroxy-5 β -androstan-17-on)

Östron (3-Hydroxy-1,3,5(10)-östratrien-17-on)

Östradiol (1,3,5(10)-Östratrien-3,17 β -diol)

Östriol (1,3,5,(10)-Östratrien-3,16 α ,17 β -triol)

Pregnenolon (3 β -Hydroxy-5-pregnen-20-on)

III. Herkunft der Materialien

Die radioaktiv markierten Verbindungen lieferte die Firma Radiochemical Center, Amersham, England. Die Steroide und Steroidkonjugate wurden von der Firma Mann Research Laboratories, Inc., New York 6, N.Y., bezogen. Der optische Test wurde mit der Biochemica-Test Combination von Boehringer, Mannheim GmbH durchgeführt. Polyamid SC-6 stammte von Machery, Magel & Co, Dören. Die Kieselgel-G-Platten 2,5 mm, wie alle übrigen Chemikalien kamen von der Firma Merck AG, Darmstadt.

IV. Herstellung der Enzympräparation

Frisches Placentagewebe (8. Monat) wurde mit physiologischer Kochsalzlösung ausgiebig gespült und gewaschen, um Blutreste weitgehend zu entfernen. Anschließend wurde im gekühlten Homogenisator in 4 ml 0,9% Natriumchlorid / 0,025% EDTA-Lösung pro g Gewebe homogenisiert, das Homogenat durch Gaze filtriert, das Filtrat 20 Minuten bei 15 000 g zentrifugiert und der Überstand dekantiert.

V. Inkubationsversuche und Bestimmung der

Glucose-6-phosphat-Denhydrogenase-

Aktivität

Im Rahmen der Inkubationsversuche wurden zunächst jeweils 0,5 ml des resultierenden Überstandes mit 1,9 ml 0,5, M EDTA-Puffer von $\text{pH}=7,6$ verdünnt und anschließend mit 0,50 ml 0,01 M NADP^+ -Lösung versetzt. Im weiteren Versuchsverlauf gab man hierzu 0,02 ml Dioxan, die gegebenenfalls $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA}$ mit 454 000 $\text{Ipm } ^3\text{H}$, $7\alpha\text{-}^3\text{H}\text{-DHEA-sulfat}$ oder $7\alpha\text{-}^3\text{H}_2\text{-DHEA-sulfatid}$ mit 282 000 $\text{Ipm } ^3\text{H}$ bzw. 246 000 $\text{Ipm } ^3\text{H}$ enthielten (31). Die Endkonzentration an Steroid oder Steroidkonjugat entsprach einer 10^{-5} M Lösung.

Während jeweils eine Probe nach 5 Minuten bei 25°C mit 0,25 ml 0,03 M Glucose-6-phosphat-Lösung versetzt wurde, gab man zu der zweiten lediglich 0,25 ml Wasser.

Beide Proben wurden sodann, wie der zugehörige Leerwert - d. i.

Dioxon ohne Steroid – 30 Minuten lang bei 25°C bebrütet. Während der ersten 5 Minuten registrierte man im Eppendorf Photometer die Absorptionsänderung bei 366 nm, zwecks Bestimmung der G-6-PDH in üblicher Weise.

VI. Aufarbeitung der Inkubate

1) Extraktion freier Steroide

Nach Beendigung der Bebrütung wurden alle Inkubate zunächst dreimal mit 5 ml Äther extrahiert, zwecks Entfernung der freien Steroide. Aus der Ätherphase wurden mit 1 n Natronlauge die Östrogene entfernt.

2) Extraktion der Steroidkonjugate

Anschließend versetzte man die präextrahierten Proben mit 4 Vol Aceton unter stetem Schütteln, ließ 60 Minuten bei 37°C stehen und filtrierte vom Eiweiß ab. Das Filtrat wurde mit 8 Vol Diisopropyläther und 2 Vol Butanol (2) – bezogen auf das Ausgangsvolumen der Probe – verdünnt, im Falle lipoidarmer Extrakte wie hier, mit 0,1 ml 0,1 % Tripalmitin in Diisopropyläther pro ml Ausgangsmaterial, sowie mit genügend wasserfreiem Natriumsulfat versetzt und nach weiteren 60 Minuten bei 37°C erneut filtriert. Der Rückstand wurde mit Diisopropyläther-Butanol-(2) (4:1 v/v) gewaschen und das entwässerte Filtrat im Rotationsverdampfer bei maximal 37°C zur Trockne eingedampft.

3) Trennung der Steroidkonjugate durch Säulenchromatographie an Polyamid

Den Rückstand überführte man mittels wenig Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v) quantitativ auf die im gleichen Lösungsmittelgemisch zubereitete Säule aus Polyamid SC-6.

Die Elution der Säule erfolgte mit 50 ml Cyclohexan-Diisopropyläther (1:1 v/v), 25 ml Diisopropyläther-Methanol (1:1 v/v), 25 ml Methanol und 25 ml Methanol-Salzsäure (99:1 v/v), In den beiden ersten Eluatien befanden sich die lipophilen Steroid-sulfatide, im letzten Eluat die Steroid-sulfate und Steroid-glucuronoside.

Zu den Sulfatiden wurde 1 Tropfen Eisessig zwecks Abspaltung des Diglycerids hinzugefügt und die Lösung sodann eingedampft. Zur Solvolyse löste man den Rückstand in 10 ml Äther-Perchlorsäure (100:1 v/v) und inkubierte übernacht bei 37°C . Östrogene ließen sich aus dem Solvolysat mit 1 N Natronlauge entfernen und wie unten angegeben isolieren.

Das Eluat, welches die Sulfate sowie Glucuronoside enthält, wurde mit 1 Tropfen 25% konz. Ammoniak neutralisiert und eingedampft.

Die Sulfate und Glucuronoside wurden einer Schwefelsäure-Solvolyse in Äthylacetat unterworfen. Anschließend wusch man mit Wasser und extrahierte mit 1 n Natronlauge die anfangs als Glucuronoside oder Sulfate vorliegenden Östrogene (6) .

4) Isolierung von Steroiden

a) Isolierung der Östrogene

Die östrogenhaltigen Fraktionen wurden mit konz. Salzsäure angesäuert und dann mit Natriumbikarbonat auf $\text{pH}=8-8,5$ eingestellt.

Die Östrogene extrahierte man mittels Äther, dampfte den Extrakt ein und überführte den Rückstand mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) auf eine Kieselgel-G Platte. Die Entwicklung des Chromatogramms geschah in Äthylacetat-Cyclohexan (1:1 v/v):

Die einzelnen Fraktionen – Östron, Östradiol und Östriol – wurden abgekratzt, mit Chloroform-Methanol (9:1 v/v) eluiert und die Eluate zur Trocknen eingedampft. Eine zweite Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-G in Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) folgte..

Unter Verwendung von 0,1 ml Methanol und 20 ml Szintillationsflüssigkeit konnte man schließlich in einem Aliquot der isolierten Östrogene die ^3H -Aktivität bestimmen unter Verwendung eines Packard-Tricarb Spektrometers 3010.

b) Isolierung der neutralen Steroide

Die Fraktion mit den neutralen Steroiden – DHEA, Androstendiol, Androstentriol und Androstendion – wurden eingedampft und mit Chloroform-Methanol (1:1 v/v) auf Kieselgel-G Platten aufgetragen. Die Entwicklung des Chromatogramms erfolgte im Lösungsmittelsystem Chloroform-Dioxan (94:6 v/v).

Die den Referenzsubstanzen entsprechenden Abschnitte wurden

abgekratzt, mit Chloroform - Methanol (9:1 v/v) eluiert und schließlich die Eluate eingedampft. Die ketonischen Steroide wurden in 2,4 - Dinitrophenylhydrazone überführt, die alkoholischen Steroide: Androstendiol und Androstentriol in Acetate. Eine zweifache Dünnschichtchromatographie schloß sich an, wobei erstere Derivate auf Kieselgel-G in Chloroform-Dioxan (94:6 v/v) und auf Polyamid in 1,2-Dichloräthan-Methanol (2:8 v/v) chromatographiert wurden, während man die Steroide der zweiten Gruppe auf Kieselgel-G in Cyclohexan-Äthylacetat (3:1 v/v) und Benzol-Äthanol (19:1 v/v) chromatographierte. Die Bestimmung der ^3H -Aktivität in aliquoten Teilen isolierter Verbindungen geschah, wie schon oben beschrieben, im Packard-Tricarb Spektrometer 3010.

Der endgültigen Identifizierung isolierter Verbindungen diente die umgekehrte Isotopenverdünnung der Derivate und ihre chromatographische Reinigung bis zu konstanter spezifischer ^3H -Aktivität.

D. Ergebnisse

Tabelle 1

Hemmung der placentaren G-6-PDH durch die benutzten Substrate

Substrat	% der Hemmung bei einer Substratkonzentration von:			
	10^{-4} M	10^{-5} M	10^{-6} M	10^{-7} M
7 α - ³ H-DHEA	53,9	37,3	12,3	5,0
7 α -H-DHEA-sulfat	12,4	8,1	5,7	1,5
7 α - ³ -DHEA-sulfatid	87,2	63,4	21,8	9,9

Tab. 1 veranschaulicht die Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase in menschlicher Placenta durch DHEA und seine Sulfokonjugate. Die Prozentangaben bei der Bestimmung der Hemmung errechneten sich dabei folgendermaßen:

$$\frac{\Delta E_{\text{Leerwert}} - \Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Leerwert}}} \cdot 100$$

Tabelle 2

Metabolismus von $7\alpha, -^3\text{H}$ -DHEA

Steroid	% isolierter ^3H -Aktivität bei einer							
	Substratkonzentration von :							
	10^{-7}M		10^{-6}M		10^{-5}M		10^{-4}M	
	frei	konj	frei	konj	frei	konj	frei	konj
Neutrale Steroide	93,11	2,35	94,28	2,16	95,52	2,20	96,29	2,12
DHEA	38,11		44,30		53,98		56,65	
Androsten- diol	39,00		33,00		24,46		15,40	
Androsten- dion	5,64		7,92		11,60		13,47	
Phenolische Steroide	4,39	0,16	3,41	0,15	2,09	0,20	1,32	0,27
Östron	0,31		0,44		0,53		0,64	
Östradiol	1,99		1,28		1,08		0,72	
Östriol	1,08		0,82		0,53		0,34	

Tab. 2 enthält Angaben über den Metabolismus von $7\alpha, -^3\text{H}$ -DHEA und gibt die prozentuale Verteilung der gefundenen ^3H -Aktivitäten auf die Fraktionen freier und konjugierter, sowie phenolischer und neutraler und die daraus isolierten C_{18} - und C_{19} -Steroide wieder.

Tabelle 3

Metabolismus von 7α - 3 H-DHEA-sulfat

Steroid	% isolierter 3 H-Aktivität bei einer							
	Substratkonzentration von :							
	10^{-7} M		10^{-6} M		10^{-5} M		10^{-4} M	
	frei	konj	frei	konj	frei	konj	frei	konj
Neutrale Steroide	19,56	72,23	20,57	74,22	16,00	81,14	11,68	87,39
DHEA	5,98	40,02	6,19	44,19	7,68	46,74	6,26	51,82
Androsten- diol	9,24	24,41	7,04	18,62	4,02	15,41	3,01	10,71
Androsten- dion	0,71	2,05	1,28	3,14	2,26	5,18	2,65	5,52
Phenolische Steroide	1,64	6,57	1,48	3,73	0,72	2,14	0,16	0,84
Östron	0,09	0,23	0,14	0,91	0,22	1,33	0,42	0,96
Östradiol	0,75	4,22	0,47	2,60	0,34	1,18	0,16	0,52
Östriol	0,38	0,83	0,26	0,47	0,12	0,11	0,04	0,07

Tab. 3 zeigt den Metabolismus von 7α - 3 H-DHEA-sulfat bzw. die prozentuale Verteilung der gefundenen 3 H-Aktivitäten auf vorgenannte Fraktionen.

Tabelle 4

Metabolismus von 7α - ^3H -DHEA-sulfatid

Steroid	% isolierter ^3H -Aktivität bei einer Substratkonzentration von :							
	10^{-7}M		10^{-6}M		10^{-5}M		10^{-4}M	
	frei	konj	frei	konj	frei	konj	frei	konj
Neutrale Steroide	31,82	58,71	29,74	62,83	30,13	64,37	30,31	67,27
DHEA	10,12	21,26	11,20	18,34	13,23	34,96	16,21	40,13
Androstendiol	12,88	29,23	8,57	24,02	6,74	18,24	5,23	15,15
Androstendion	2,14	1,76	4,53	2,63	5,22	4,16	4,99	5,12
Phenolische Steroide	3,16	6,31	2,64	4,79	1,83	3,67	0,94	1,48
Östron	0,41	0,28	0,52	0,32	0,60	0,47	0,68	0,66
Östradiol	1,14	4,98	0,76	3,20	0,56	1,82	0,23	0,92
Östriol	0,42	1,12	0,32	0,48	0,27	0,19	0,07	0,18

Aus Tab. 4 geht der Stoffwechsel von 7α - ^3H -DHEA-sulfatid bei steigenden Konzentrationen hervor.

Abbildung 6

Zusammenhänge zwischen G-6-PDH-Aktivität und Östrogenbiosynthese
bei Inkubation mit $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA

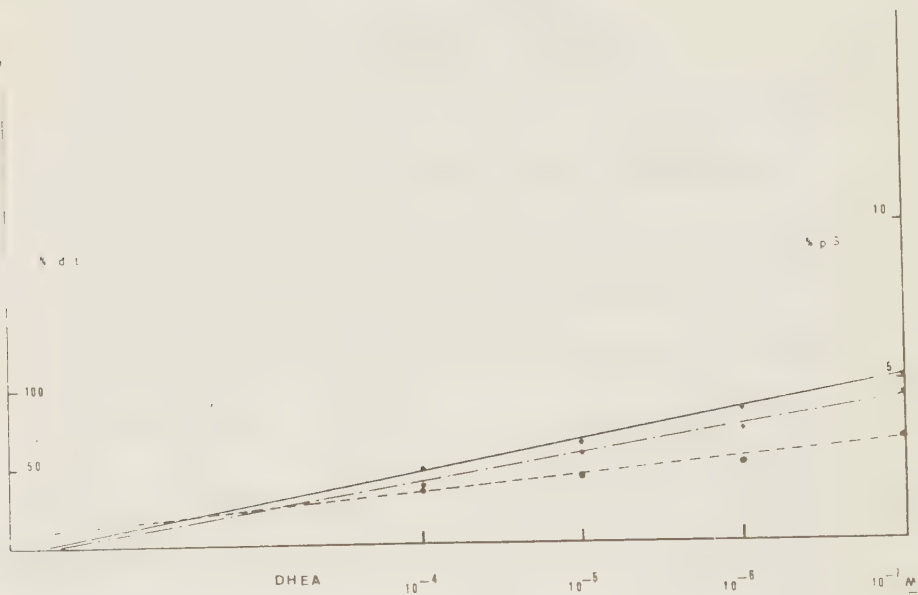
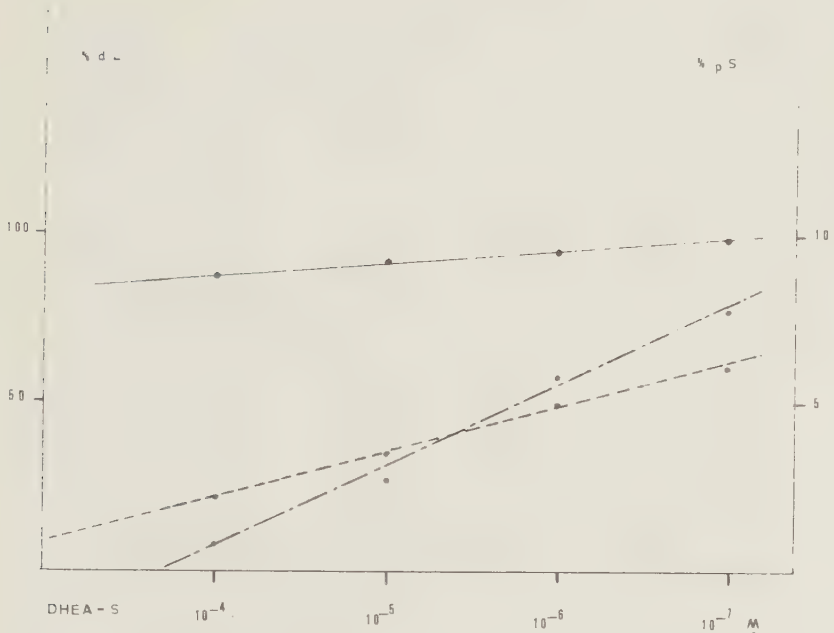


Abb. 6 stellt die Zusammenhänge zwischen der G-6-PDH-Aktivität und der Östrogenbiosynthese bei Inkubation einer Enzympräparation aus menschlicher Placenta mit DHEA in verschiedenen Konzentrationen dar.

Abbildung 7

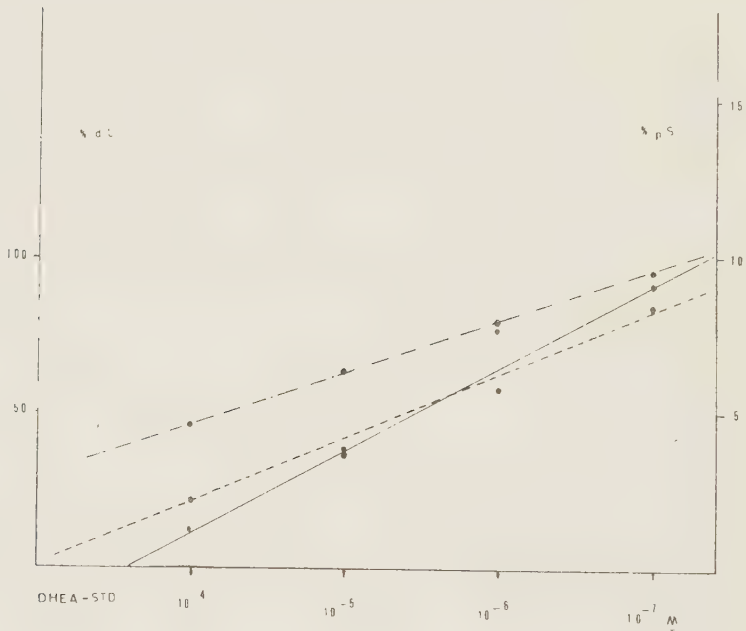
Zusammenhänge zwischen G-6-PDH-Aktivität und Östrogenbiosynthese bei Inkubation mit 7α - 3 H-DHEA-sulfat.



Aus Abb. 7 werden Zusammenhänge zwischen der G-6-PDH-Aktivität und der Östrogenbiosynthese bei Inkubation mit DHEA-sulfat ersichtlich, während Abb. 8 die entsprechenden Ergebnisse bei Bebrütung mit DHEA-sulfatid veranschaulicht.

Abbildung 8

Zusammenhänge zwischen G-6-PDH-Aktivität und Östrogenbiosynthese bei Inkubation mit 7α - 3 H-DHEA-sulfatid



% d L : % des Leerwertes

% p S : % der phenolischen Steroide

— : G-6-PDH

- - - : phenolische Steroide

- · - : E₁ + E₂ + E₃

% K : % Umwandlung

Substrate : freie konj. Östrogene

DHEA	
DHEA-sulfat	
DHEA-sulfatid	

Abbildung 9

Biosynthese von Östrogenen aus $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA, $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-sulfat und $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-sulfatid (siehe Abb. 6-8)

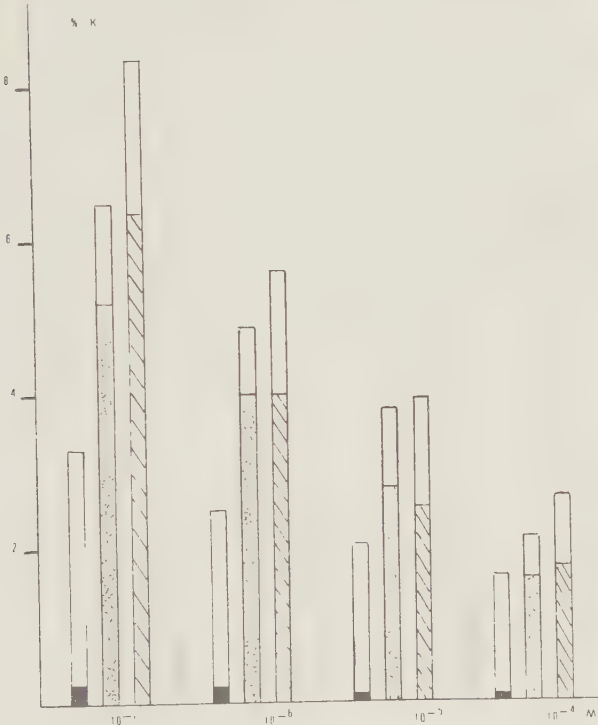
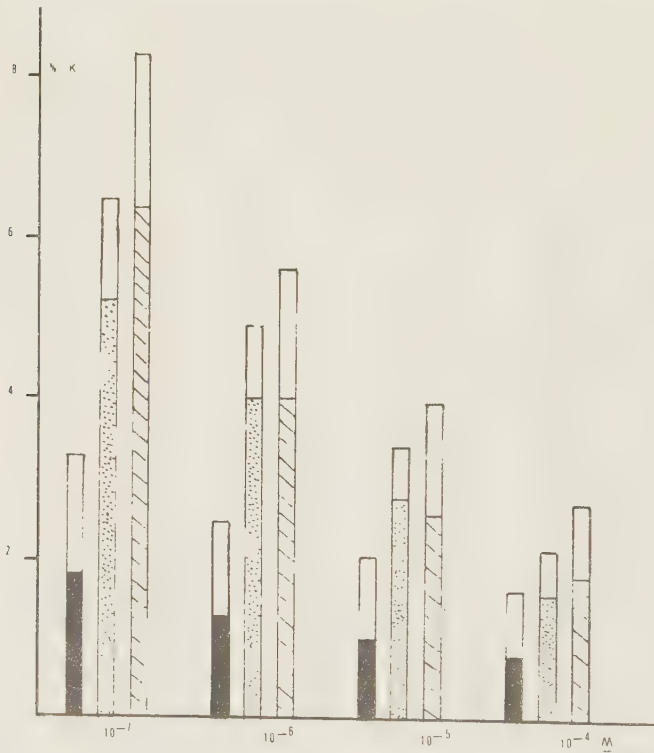


Abb. 9 ist als Zusammenfassung der Abb. 6,7 und 8 zu sehen. Sie stellt den Prozentsatz entstandener freier und konjugierter Östrogene bei unterschiedlichen Substratkonzentrationen von DHEA, DHEA-sulfat und DHEA-sulfatid dar.

Abbildung 10

Biosynthese von Östrogenen aus $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA, $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-sulfat und $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-sulfatid



In Abb. 10 werden entsprechende Resultate einer zweiten Versuchsreihe, gezeigt, in deren Verlauf eine starke Sulfokinaseaktivität festzustellen war.

E. Diskussion

Die Wirkung der G-6-PDH auf viele Stoffwechselvorgänge im menschlichen und tierischen Organismus beschäftigte die Wissenschaft nach der Entdeckung des Enzyms durch O. Warburg und seine Mitarbeiter und gab zu zahlreichen Untersuchungen Anlaß. Man isolierte das Enzym aus vielen Geweben und zog zur Bestimmung seiner Aktivität manometrische und optische Messungen heran. Als Schlüsselenzym des Pentosephosphotzyklus wurde ihm aus biochemischer Sicht eine entscheidende Rolle zu teil. Die durch das Enzym katalysierte Reaktion läßt NADPH entstehen, welches als Protonendonator für die Fettsäure- und Steroidsynthese, wie Purin- und Pyrimidinaufbau und Inaktivierung von Insulin fungiert (15, 50). Auf Grund eines Eingreifens der G-6-PDH in wichtige Stoffwechselvorgänge läßt sich folgern, daß durch Änderung der Enzymaktivität Störungen in der Biosynthese oben genannter Stoffe entstehen können und je nach Aktivitätssteigerung oder -abnahme ein vorliegendes Reaktionsgleichgewicht nach der einen oder anderen Seite verlagert wird.

Verschiedene Steroide sind nachweislich in der Lage, die Aktivität der G-6-PDH zu beeinflussen bzw. zu hemmen (4,21,24,25,37,39), so etwa DHEA und Pregnenolon. Da DHEA in größerer Menge im Organismus vorkommt, könnte dieses Steroid als wichtiger Regulator der G-6-PDH-Aktivität gelten. Zumal bei verschiedenen Erkrankungen der DHEA-Blutspiegel bzw. die DHEA-Ausscheidung verringert ist (12,22,50).

Versuche mit DHEA und seinen Sulfokonjugaten (DHEA-sulfat

und DHEA-sulfatid) ergaben, daß das Steroidsulfatid eine stärkere Hemmung der G-6-PDH-Aktivität in Lebergewebe und Erythrozyt (37, 39) verursacht als freies DHEA, während DHEA-sulfat keinen inhibitorischen Effekt aufweist. Die Ergebnisse dieser Experimente über die Hemmung der G-6-PDH-Aktivität treffen auch auf Versuche mit G-6-PDH aus menschlicher Placenta zu (27).

In den hier beschriebenen Versuchen (Tab.1) sollte einmal die Hemmung der G-6-PDH-Aktivität in menschlicher Placenta durch verschiedene Konzentrationen von 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-sulfat und 7α - ^3H -DHEA-sulfatid untersucht werden. Aus Tab. 1 wird ersichtlich, daß die Hemmung der G-6-PDH konzentrationsabhängig ist. Dies gilt sowohl für 7α - ^3H -DHEA als auch für seine Sulfokonjugate.

7α - ^3H -DHEA-sulfatid zeigte die stärkste Hemmung der drei Substrate. Bei einer Konzentration von 10^{-4}M kommt es mit 87% fast zu einer vollständigen Hemmung der G-6-PDH-Aktivität. Allerdings übersteigt eine Konzentration von 10^{-4}M die physiologischen Plasma- und Gewebespiegel um mindestens eine Zehnerpotenz.

Bei 10^{-6}M Konzentrationen fand man noch eine 22% Hemmung der placentaren G-6-PDH. Bei gleicher Konzentration freien DHEA's, die etwa zehnmal höher liegt als der normale Plasmaspiegel, ergab sich nur eine 12% Inhibition der Enzymaktivität. Auf Grund eines hohen Gehaltes an Steroid-Sulfatasen in der Placenta (55, 56) können jedoch dort größere Mengen freien Steroids auftreten.

Untersuchungen über den Gehalt der Placenta an freiem und sulfokonjugiertem DHEA ließen einen hohen Anteil an freiem DHEA erkennen, wogegen im peripheren Plasma die Sulfokonjugate über-

wiegen. Die Wirkung von DHEA-sulfatid in Placentagewebe kann daher unter in vivo Bedingungen leicht von der Hemmung der durch freies DHEA übertroffen werden. 7α - ^3H -DHEA-sulfat zeigte innerhalb der Versuchsreihe keine nennenswerten inhibitorischen Effekte. Die geringe Hemmung ist wahrscheinlich der Hydrolyse des Konjugates zuzuschreiben. Denn in Abwesenheit von Steroid-Sulfatase zeigt wasserlösliches DHEA-sulfat keinerlei Wirkung auf die Aktivität der G-6-PDH (12,54). Die Anwesenheit der placentaren Steroid-Sulfatase ist außerdem hinlänglich gesichert (55,56). Aus Tab. 2 geht der Metabolismus des 7α - ^3H -DHEA in der Enzympräparation hervor, der sich hier auf einige wichtige neutrale und phenolische Steroide beschränkte. Ausser freien Verbindungen wurden dabei auch konjugierte Steroide isoliert. Der Anteil der konjugierten neutralen Steroide (2,35 - 2,12 %) und der konjugierten phenolischen Steroide (0,27 - 0,15 %) war jedoch so gering, daß eine Auftragung der daraus gewonnenen Steroide unterblieb. Das Auftreten ^3H -markierter Konjugate weist auf das Vorhandensein einer Sulfokinase in Placenta hin, welche Steroide in ihre Sulfokonjugate überführt.

Bei den Experimenten mit DHEA-sulfat (Tab. 3) fanden sich naturgemäß weitaus höhere Konzentrationen sulfokonjugierter Steroide. Es scheint bemerkenswert, daß bei einer Substratkonzentration von 10^{-7}M etwa 21 % des vorgelegten Steroidsulfats hydrolysiert wurden, bei einer 10^{-4}M Konzentration dagegen nur rund 12 %. Dieser relativ hohe Prozentsatz auftretender freier Steroide kennzeichnet die Aktivität der placentaren Sulfatase.

Bei der Inkubation von Placentahomogenat mit DHEA-sulfatid (Tab. 4)

kam es zu einer noch stärkeren Hydrolyse des Konjugats. Mit 35 % bzw. 31 % bei Substratkonzentrationen von 10^{-4}M bzw. 10^{-7}M wurde somit im Verlauf der Inkubation rund ein Drittel des eingesetzten Steroidkonjugates gespalten.

Derartige Befunde könnten u.U. auf eine höhere Affinität der placentaren Sulfatase für das lipophile Steroid-sulfatid deuten, falls es sich überhaupt um das gleiche Enzym handelt, welches beide Sulfokonjugate hydrolysiert.

Durch die Verwendung von ^3H -markierten 7α - ^3H -DHEA, 7α - ^3H -DHEA-sulfat und 7α - ^3H -DHEA-sulfatid konnten überdies in Homogenaten aus menschlicher Placenta weitere Enzymsysteme nachgewiesen werden, die am Metabolismus des DHEA's beteiligt sind.

Was die prozentuale Verteilung der ^3H -Aktivität auf isolierte C_{18} - und C_{19} -Steroide angeht (Tab. 2-4) so belief sich der Anteil freien, nicht umgewandelten DHEA's bei einer Konzentration von 10^{-7}M auf 38 %, bei 10^{-4}M aber schon auf 57 %. Diese Ergebnisse stehen mit denen der Konjugate im großen und ganzen im Einklang. Bei 7α - ^3H -DHEA-sulfat wurden bei der niedrigsten Konzentration 46 % und bei der höchsten 58 % nicht metabolisiert. Für 7α - ^3H -DHEA-sulfatid lagen die entsprechenden Werte bei 31 % gegen- über 56 %.

Bemerkenswert erscheint noch die Verminderung der 17β -Hydroxy-Steroide mit steigender Substratkonzentration. Bei 10^{-7}M Konzentration von 7α - ^3H -DHEA z.B. wurden 39 % der ^3H -Aktivität als Androstendiol isoliert, wogegen man bei 10^{-4}M Konzentration nur noch 15 % als Androstendiol isolierte. Die Ausbeute des Steroids

verringerte sich also um mehr als die Hälfte, wogegen die der 3,17-Dioxosteroide – hier Androstendion – auf annähernd das Dreifache anstieg.

Diese Ergebnisse beruhen auf der beeinträchtigten Bildung von NADPH unter dem Einfluß einer zunehmend gehemmten G-6-PDH, wobei das aus NADH gebildete NADPH für die Reduktion der 17-Oxogruppe (13), sowie für die Hydroxylierung des Steroidmoleküls an C-16 (47) oder an C-19 benötigt wird. Die Hydrolyse der Sulfokonjugate durch die placentare Sulfatase blieb dagegen unbeeinflusst (11).

Man erkennt, daß die Aktivität der G-6-PDH einmal durch DHEA oder DHEA-sulfatid gehemmt wird, auf der anderen Seite aber wieder den Stoffwechsel der Inhibitoren maßgeblich beeinflusst.

Die Synthese von Östrogenen innerhalb der Versuchsreihe spricht für das Vorhandensein einer Aromatase in menschlicher Placenta. Außerdem wird durch das Auffinden von phenolischen Steroiden die Behauptung bestätigt, daß DHEA und seine Sulfokonjugate eine Vorstufe der Östrogene darstellen (5,8,44) .

Die größte Ausbeute an Östrogenen brachte 7α - ^3H -DHEA-sulfatid. Bei 7α - ^3H -DHEA-sulfat fiel der Anteil der Östrogene um ein Viertel, bei 7α - ^3H -DHEA um die Hälfte. Im Falle niedriger Substratkonzentrationen isolierte man vergleichsweise hohe Konzentrationen phenolischer Steroide, die sich hauptsächlich aus Östradiol und Östriol zusammensetzten, während bei 10^{-4}M Konzentrationen durchweg Östron vorherrschte. Die Ursache für die Abnahme der 17 β -Hydroxy-Steroide bei steigenden Substratkonzentrationen wurde schon oben erläutert.

Bei niedrigen Substratkonzentrationen wird also durch ein größeres Angebot von NADPH mehr DHEA, DHEA-sulfat oder DHEA-sulfatid umgesetzt, wobei sich der stärkere Metabolismus auf die NADPH-abhängigen Reaktionen erstreckt. So erreichte bei 10^{-7}M Substrat die Ausbeute von Östradiol und Östriol fast 20 mal so hohe Werte wie bei 10^{-4}M Konzentrationen.

Die graphischen Darstellungen der Abb. 6 - 10 sollen Zusammenhänge zwischen Östrogenbiosynthese und G-6-PDH-Aktivität bei unterschiedlichen Substratkonzentrationen verdeutlichen. Hier gibt Abb. 9 ein summarisches Bild der entstandenen Östrogene aus den drei Substraten wieder. Gegenüber derartigen Befunden zeigt Abb. 10, welche die Resultate einer zweiten, entsprechenden Versuchsreihe zusammenfasst, eine weitaus stärkere Sulfo-kinase-Aktivität.

Die Abhängigkeit der Östrogenbiosynthese und der G-6-PDH-Aktivität von der Substratkonzentration erwies sich in jedem Falle als linear.

Insgesamt gesehen spielt also die Aktivität der G-6-PDH beim Stoffwechsel von DHEA oder seinen Sulfokonjugaten in menschlicher Placenta keine unwesentliche Rolle. Wie die Versuchsreihen zeigten, führten höhere Substratkonzentrationen absolut gemessen zwar zu einer Zunahme isolierter Metaboliten, doch steht der höheren Substratkonzentration eine eingeschränkte G-6-PDH-Aktivität gegenüber, die bei einigen Metaboliten, wie Östradiol und Östriol mit einer verminderten Synthese beantwortet wird. Ob dieser scheinbar vorherrschende Einfluß der Substratkonzentration auch unter physiologischen Bedingungen

besteht, läßt sich nicht entscheiden. Die Konzentration von DHEA - vornehmlich als freies Steroid - entsprach mit etwa 1μ Mol DHEA pro 1 000 g Frischgewebe einer 10^{-6} M (28).

Für die normale Entwicklung des Feten ist die Östrogenbildung unentbehrlich - ungeachtet ob es sich um das mengenmäßig überwiegende Östriol oder etwa Östradiol handelt - , die demnach nicht zuletzt auch von der Aktivität der G-6-PDH abhängt. Diese aber wird wiederum durch die Konzentration des DHEA's als Substrat für die Östrogenbiosynthese weitgehend bestimmt.

Es bleibt allerdings die Frage unbeantwortet, in wieweit andere Steroide oder Steroidkonjugate für (1,3,34,44) die Biosynthese der phenolischen Steroide in menschlicher Placenta von Bedeutung sind (8,9). Den vorliegenden Versuchen zufolge scheint jedoch zumindest eine direkte Beziehung zwischen der Umwandlung von DHEA bzw. seinen Sulfokonjugaten in Östrogene und der placentaren G-6-PDH-Aktivität gesichert.

F. Zusammenfassung

Eine Enzympräparation aus menschlichem Placentahomogenat wurde mit ^3H -markiertem DHEA und seinen Konjugaten DHEA-sulfat und DHEA-sulfatid bebrütet, um die Umwandlung dieser Verbindung in Östrogene in Abhängigkeit der G-6-PDH-Aktivität und damit der NADPH-Produktion zu verfolgen.

Es zeigte sich, daß niedrige Konzentrationen von 7α - ^3H -DHEA oder seinen Sulfokonjugaten eine vergleichsweise geringere Hemmung der G-6-PDH bewirken und eine vermehrte NADPH-Produktion zu höheren Ausbeuten an Östrogenen führt.

3. Steroidhormonzirkulation

- 1') Baird, D.T.,
R. Horton,
C. Longcope,
J.F. Tait
Steroid dynamics under
steady state conditions.
Rec. Progr. Hormone Res.
25 , 611 - 664 (1969)
- 2) Baulieu, E.E.
Three sulfats esters of
17-ketosteroids in the
plasma of normal subjects
and after abministration
of ACTH.
J. clin. Endocr. Metab.
(Springfield) 20 ,
900 - 903 (1960)
- 3) Baulieu, E.E.,
F. Dray
Conversion of ^3H -dehydro-
epiandrosterone (3β -hydroxy-
 Δ^5 -androsen-17-one) sulfate
to ^3H -estrogens in normal
pregnant women.
J. clin. Endocr. Metab.
23 , 1298 - 1301 (1963)
- 4) Benes, P.
G.W. Oertel
Hemmung der Glucose-6-
phosphat-Dehydrogenase durch
Steroide. V. Einfluß der pla-

- Dehydrogenase-Aktivität
auf den Stoffwechsel von
 7α - ^3H -Dehydroepiandrosteron.
Endokrinologie, im Druck 1972
- 5) Bolte, E. ,
S. Mancuso,
C. Erikson,
N. Wiquist,
E. Diczfalusy
Studies of the aromatization
of neutral steroids in pregnant
women. I. Aromatization of
 C_{19} -steroids by placentas
perfused in situ.
Acta Endocr. (K'hn),
45, 535 - 559 (1964)
- 6) Brown, J.B.
A chemical method for the
determination of oestrone,
oestriol and oestradiol in human
urine.
Biochem. J. 60,
185 - 193 (1955)
- 7) Diczfalusy, E.
Endocrine functions of the
placenta. First international
congress of Endocrinologie,
Copenhagen,
July 1960, 129 - 133
- 8) Diczfalusy, E.
In vivo biogenesis and metabo-
lism of estrogens in the foeto-

placental unit.

Exc. med. Intern. Congr. Ser.

83, 732 - 736 (1965)

9) Diczfalusy, E.

Steroid metabolism in the
human foeto-placental unit.

Acta Endocr. (Kbh)

61, 649 - 664 (1969)

10) Diczfalusy, E.

Das Verhalten von Chorion-
gonadotropin und Östrogenen
in der menschlichen Placenta.

3. Symposion Dtsch. Ges.

Endokrinol., Berlin 1956,

147 - 159

11) French, A.,

J.C. Warren

Steroid-3 β -sulfatase in fetal
and placental tissue.

Steroids 6, 865 - 869 (1965)

12) Holzmann, H.,

E. Morsches,

R. Gebhardt,

G. Hoffman,

F. Menzel,

G.W. Oertel

Untersuchungen zum DHEA-
Gehalt im Plasma von Psor-
iaticern.

Zschr. Haut-Geschl. krkh.

45, 579 - 590 (1970)

- 13) Jarabak, J.,
J.A. Adams,
P. Talay
Properties of 17 β -hydroxy-steroid dehydrogenase of human placenta.
Fed. Proc. 22, 468 (1963)
- 14) Kaiser, R.
Anatomie und Physiologie der Fortpflanzung, aus :
Lehrbuch der Geburtshilfe.
7. Aufl., hrsg. von Martius,
G., Stuttgart 1971, 30 - 32
- 15) Karlson, P.
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
5. Aufl., Stuttgart 1966
- 16) Keller, P.J.,
H. Greub,
C. Gerber,
W.E. Schreiner
Die Proteohormone der menschlichen Placenta. I.
Radioimmunologische Bestimmung und Bedeutung des placentaren Laktogens.
Schweiz. Z. Gynäk. Geburtsh.
1, 149 - 161 (1970)
- 17) Kitschin, J.D.,
P.C. Ouyang,
S. H. Conrad,
R. J. Pion
Utilization of precursor steroids in placental progesterone synthesis.
Amer. J. Obstet. Gynec.
103, 48 - 55 (1969)

- 18) Kuschinsky, G.,
H. Lüllmann
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
5. Aufl., Stuttgart 1972
- 19) Löhr, G.W.,
H.D. Waller
Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (Zwischenferment). In :
Methoden der enzymatischen Analyse, hrsg. v. Bergmeyer,
H.U., Weinheim 1962, 744 - 751
- 20) Mac Donald, P.C.,
A. Chapdelaine,
O. Gurpide,
O. Gonzales,
R. Vande Wiele,
S. Libermann
Studies on the secretion
and interconversion of the
androgens. III. Results obtained after the injection of
several radioactive C_{19} -steroids, singly or as mixtures.
J. clin. Endocr. Metab.
(Springfield) 25, 1557 - 1567
(1965)
- 21) Mac Kerns, K.W.,
E. Kaleith
Inhibition of Glucose-6-phosphate dehydrogenase
by hormones.
Biochem. biophys. Res. Comm.
2, 344 - 348 (1960)

- 22) Malina, L.,
J. Sonka,
I. Gregorova
Die Ausscheidung von Dehydro-
epiandrosteron im Urin von
Psoriatikern.
Dermat. Wschr.
46, 504 - 508 (1964)
- 23) Mancuso, S.,
G. Benagiano,
S. Dell'Aqua,
E. Diczfalusy
Androgen metabolism in the
foeto-placental unit.
Exc. Med. Inter. Congr. Ser.
184, 1112 - 1118 (1969)
- 24) Marks, P.A.,
A. Szeinberg,
J. Banks
Erythrocyte glucose-6-phosphate
dehydrogenase of normal and
mutant human subjects.
J. biol. Chem.
236, 10 - 17 (1961)
- 25) Marks, P.A.,
J. Banks
Inhibition of mammalian
glucose-6-phosphat dehydro-
genase by steroids.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)
46, 442 - 452 (1960)
- 26) Martius, H.
Lehrbuch der Geburtshilfe.
6. Auflage, Stuttgart 1964
- 27) Menzel, P.,
M. Gobbert,
G.W. Oertel
Effects of dehydroepiandrosterone
and its conjugates upon the
activity of the glucose-6-

- 32) Oertel, G. W. Über Steroidkonjugate im Plasma .
XVII. Isolierung und Charakteri-
sierung lipophiler Steroidkonjugate
aus Nebennierenrindengewebe,
Plasma und Liquor.
Hoppe-Seyler's Zschr. physiol.
Chemie. 343, 276 - 281 (1966)
- 33) Oertel, G. W. Dehydroepiandrosteron in klini-
scher und biochemischer Sicht.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)
21, 543 - 545 (1971)
- 34) Oertel, G. W. , On lipophile steroid conjugates.
K. Groot, II. In-vivo biogenesis of estro-
D. Wenzel gens from biosynthetic dehydro-
epiandrosterone sulfatide.
Acta Endocr. (Kbh.)
49, 533 - 540 (1965)
- 35) Oertel, G. W. , Über Steroid-Konjugate im Plasma .
P. Knapstein, XIX. Direkter und indirekter
L. Treiber Metabolismus von i. v. verabreich-
ten ^3H und ^{35}S markierten Andro-
stenolonsulfates.
Hoppe-Seyler's Zschr.
physiol. Chem.
345, 221 - 235 (1966)

- 36) Oertel, G. W.,
P. Menzel,
D. Wenzel
Über Steroid-Konjugate im
Plasma. XXI. Zur Isolierung
von Steroid-sulfatiden aus
biologischem Material.
Journal of Steroid Biochemistry
1, 17 - 23 (1969)
- 37) Oertel, G. W.,
P. Menzel,
D. Bauke
Effects of dehydroepiandroster-
one and its conjugates upon the
activity of glucose-6-phosphate
dehydrogenase.
Clin. chim. Acta
27, 197 - 201 (1970)
- 38) Oertel, G.W.
P. Menzel
Dehydroepiandrosteron,
Androsteron und Ätiocholanolon
im Harn und Plasma nach Gabe
von Dehydroepiandrosteronsulfat.
Arzneimittel-Forsch. (Aulendorf)
20, 417 - 418 (1970)
- 39) Oertel, G. W.,
I. Rebelein
Effects of dehydroepiandrosteron
and its conjugates upon the
activity of glucose-6-phosphate
dehydrogenase in human erythrocy-
tes. Biochem. biophys. Acta (Amst.)
184, 459 - 460 (1969)

- 40) Oertel, G. W.,
L. Treiber
Vorkommen und Stoffwechsel von
C₁₉-Steroiden in der Haut.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
349, 11 (1968)
- 41) Oertel, G. W.,
L. Treiber,
W. Rindt
Direct aromatization of C₁₉-
steroids sulphatase.
Experimentia
23, 97 (1967)
- 42) Pschyrembel, W.
Klinisches Wörterbuch mit
klinischen Symptomen.
185. - 250. Aufl., Berlin 1969
- 43) Rein, H.,
M. Schneider
Einführung in die Physiologie
des Menschen.
15. Aufl., Berlin, Göttingen ,
Heidelberg 1964
- 44) Siiteri, P.K.,
P.C. Mac Donald
The utilization of circulating
dehydroepiandrosterone sulfate
for estrogen synthesis during
human pregnancy. Steroids
2, 713 - 730 (1963)
- 45) Siiteri, P.K.,
P.C. Mac Donald
Estrogen formation in human
pregnancy.

- 50) Sonka, J.,
J. Gregorova,
M. Jiranek,
F. Kölbel,
Z. Matys
Defekt des DHEA – ein
neues Syndrom ?
Endokrinologie
47, 152 – 161 (1965)
- 51) Staemmler, H.-J.
Fibel der gynäkologischen
Endokrinologie.
Stuttgart 1969, 41 – 57
- 52) Tabei, T.
Biosynthesis of estrogens
in the human placenta.
Acta obstet. gynec. jap.
17, (1), 1 – 10 (1970)
- 53) Townsend, L.,
J. R. Kenneth
In vitro metabolism of pregnenolon –
 7α - ^3H , progesterone-4- ^{14}C and
androstendione-4- ^{14}C by rat
placental tissue. Endocrinology
87, 151 – 155 (1970)
- 54) Tsutsui, E.A.,
P.A. Marks,
R. Reich
Effects of dehydroepiandrosterone
on glucose –6-phosphat dehydro-
genase activity and reduced tri-
phosphopyridine nucleotid
formation in adrenal tissue.
J. Biol. Chem.
237, 3009 – 3013 (1962)

- 55) Warren, J. C.,
A.P. French
Distribution of steroid sulfatase
in human tissue.
J. clin. Endocr. Metab.
25, 278 - 282 (1965)
- 56) Warren, J. C.,
C.E. Timberlake
Steroid sulfatase in
human placenta.
J. Clin. Endocr.
22, 1148 - 1151 (1962)
- 57) Watzka, M.
Kurzlehrbuch der Histologie
und mikroskopischen Anatomie
des Menschen.
3. Aufl., Stuttgart 1964
- 58) Wotiz, H.H.,
J.W. Davis,
H. M. Lemon,
M. Gut
Studies in steroid metabolism.
V. The conversion of testosterone-4-¹⁴C to estrogens
by human ovarian tissue.
J. biol. chem.
222, 487 - 495 (1956)
- 59) Zander, J.
Die Hormonbildung der Placenta
und ihre Bedeutung für die Frucht.
Arch. Gynäk.
198, 113 (1963)

60) Zander, J.

Geburtshilfe und Frauenheilkunde.

13, 876 (1957)

61) Zander, J.

Progesterone and its metabolites in the placental-foetal unit.
Exc. Med. Found. Congr. Ser.
83 , 715 - 720 (1965)

Herrn Professor Dr. med. Volker Friedberg,
Direktor der Universitäts-Frauenklinik Mainz,
bin ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes
in seinem Institut zu Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. rer. nat. Georg W. Oertel,
Abteilungsvorsteher der Abteilung für Experimen-
teile Endokrinologie Mainz, danke ich recht herzlich
für die Überlassung des Themas, sowie für seinen
Rat in wissenschaftlichen Fragen.

Herrn Dr. med. G. Hoffmann danke ich für die
Vermittlung theoretischer Grundlagen und für
die Hilfe bei der praktischen Durchführung der
Versuche.

Lebenslauf

Am 7. April 1947 wurde ich , Dorothea Bardens, als zweites Kind des Zahnarztes Rupert Bardens und seiner Ehefrau Emmy, geb. Hockenberger, in Kaiserslautern geboren.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich in Kaiserslautern die Volksschule und anschließend das Staatliche Neusprachliche Gymnasium an der Burgstraße in Kaiserslautern, an dem ich im Herbst 1966 mein Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz mit dem Studium der Zahnmedizin. Dort bestand ich im Herbst 1967 das Vorphysikum und im Herbst 1969 das Physikum. Im Sommersemester 1972 legte ich vor dem Prüfungsausschuß in Mainz mein Staatsexamen mit Erfolg ab.

